



ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

D^r CALMETTE, directeur de l'Institut Pasteur de Lille ;
D^r CHANTEMESSE, professeur à la Faculté de Médecine ;
D^r LAVERAN, membre de l'Institut de France ;
D^r L. MARTIN, directeur du service de Sérothérapie ;
P^r METCHNIKOFF, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
D^r ROUX, directeur de l'Institut Pasteur ;
D^r VAILLARD, membre de l'Académie de Médecine.

TOME TRENTIÈME

1916

AVEC 11 PLANCHES

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain (6^e).

QR
1
A475
V.30
1916
PER

Digitized by the Internet Archive
in 2024

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de M. E. Metchnikoff.

CERTAIN ALTERATIONS IN BIOLOGICAL PROPERTIES OF SPIROCHAETES THROUGH ARTIFICIAL CULTIVATION

by HIDEYO NOGUCHI.

(From the Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical Research.)

A new era in the experimental research of syphilis was opened out by Metchnikoff and Roux when they succeeded in transmitting syphilis to anthropoid apes (1). It was they also who furnished the experimental syphilitic material in which *Treponema pallidum* was first demonstrated, this microorganism having in the meantime been found by Schaudinn and Hoffmann to be present in human syphilis. By this means one of the requisite postulates for the establishment of the etiological relation between *Treponema pallidum* and syphilis was provided. To the pioneer work of Metchnikoff and Roux we are indebted for many of the subsequent developments in the field of experimental syphilis.

(1) METCHNIKOFF et ROUX, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1903, 1904, 1905, 1906, 1907; — *Bull. de l'Acad. de Méd.*, Paris, t. LXIX, n° 20, and *Bull. méd.*, 1905, p. 441.

Of late years one of the most disputed problems in connection with the experimental research of syphilis has been that of the cultivation of *Treponema pallidum*. This particular phase of the investigation has called forth profound study on the part of numerous experimental workers, but it was not until the cultivation of *Treponema pallidum* was undertaken with a purely experimental material (namely the uncomplicated syphiloma of the rabbit's testicle, after Uhlenhuth and Mulzer) that the vexed question as to the identity of the spirochaeta cultivated according to various methods was finally decided. We recall a time when any spirochaeta cultivated from human syphilitic tissue (highly impure material and resembling *Treponema pallidum* in its morphological features was thought to be the organism of syphilis (Schereschewsky, Mühlens, W. H. Hoffmann); but as the result of subsequent investigations carried out with the pure experimental syphilitic material, it has been shown that certain cultures formerly held to be those of the *pallidum* differed essentially from a virulent culture derived from the latter material in being putrefactive and avirulent [Noguchi (1), confirmed by the subsequent works of Sowade, Tomaszewski, Arnheim, Shmamine, Nakano, Baeslack and others] (2). It has now been settled beyond dispute that an odor-producing *Treponema* is not the *Treponema pallidum*, and this conclusion has been arrived at through the aid of experimental syphilis produced in suitable animals. In commemorating the jubilee of our master Professor Metchnikoff it may therefore not be out of place here to record a few of the phenomena observed by me during the last few years in connection with *Treponema pallidum* and other members of the genus *Treponema*.

The phenomena in question relate to certain modifications which were seen to occur in the biological properties of various treponemata after the latter had been subjected to brief or prolonged cultivation on artificial media. It may here be recalled that I have succeeded in obtaining in pure cultures the

(1) NOGUCHI, *Journ. Am. Med. Assoc.*, July, 8, 1911, p. 102; — *Munch. med. Wochenschr.*, 1901, n° 29, p. 1330; — *Jour. Exper. Med.*, 1911, t. XIV, p. 99; — *Jour. Exper. Med.*, 1912, t. XV, p. 90.

(2) A review may be found in *La Presse Médicale*, n° 76, septembre 1913.

following varieties the of *Treponema* group : *Tr. pallidum*, *Tr. pertenue*, *Tr. macrodentium*, *Tr. microdentium*, *Tr. mucosum*, *Tr. calligylum* and *Tr. refringens*. These were maintained in pure cultures by successive transplantations and kept under observation for two to four years [since 1910-1912] (1). The salient points of interest are briefly as follows :

From a morphological standpoint no striking modifications has been observed in these cultures. They still retain their original types even after a period of from two to four years. The staining reactions are also unaffected, although the *pallidum*, when grown in a fluid medium, takes up the red component of the Giemsa somewhat more readily than the specimens in the tissue or solid culture media. On the other hand it has been noticed that certain definite alterations occur in their biological properties. In the case of the *pallidum* the virulence disappeared within about four months after its purification. In that of the *pertenue* it was found that the strain I studied lost its virulence as soon as it was freshly isolated in pure culture. The power possessed by the *microdentium* to produce an intense disagreeable odor remained undiminished for nearly one year, but this gradually and almost imperceptibly diminished in intensity and now after two years the odor is scarcely noticeable. In the case of the *mucosum* it was found that its mucin-producing property gradually weakened and finally disappeared within about five months after its isolation. Although the odor-producing property of this species has suffered a more gradual diminution in the course of a prolonged life in culture, nevertheless it is distinctly less marked than was the case two years ago. The other species here mentioned possess no remarkable features, and they apparently remain unmodified in their characteristics, none of them being odor-producing.

The gradual or often sudden disappearance of the virulence of highly parasitic organisms, such as the *pallidum* and *pertenue*, under artificial cultural conditions is not much to be wondered at, especially when we know from the experiments

(1) For the literature see the bibliography in the article appearing in n° 76 of *La Presse Médicale*, sept. 1913.

of Levaditi, Yamanouchi and M'Intosh that they rapidly become avirulent, even when cultivated in a collodion sac within the peritoneal cavity of suitable animals. On the other hand, it is rather astonishing to learn that the saprophytic species, such as the *microdentium* and *mucosum*, also undergo profound alterations in their biological characteristics. Probably the cultural conditions accorded them, which undoubtedly approximate a state of parasitism more than those of the natural habitus of these organisms, were responsible for the gradual loss of their putrefactive property, and this may constitute an example of functional loss through the disuse of certain faculties brought about by the new environments.

PRÉPARATION DU CATGUT

par A. GORIS,

Professeur agrégé à l'École Supérieure de Pharmacie,
Pharmacien-chef des Hôpitaux de Paris.

(Travail du Laboratoire de M. le Professeur Borrel.)

De tout le matériel opératoire, le *catgut*, plus encore peut-être que le chloroforme, est l'objet des préoccupations du chirurgien. Posséder un *catgut* parfait est pour l'opérateur un souci constant, et cela s'explique puisque le *catgut* est le seul fil résorbable qu'il soit facile de se procurer.

En quoi donc consiste, pour le *catgut*, cette perfection si ardemment réclamée par le corps chirurgical ?

Un *catgut* doit-être : *stérile, solide, souple*. C'est dans cet ordre de gradation que sont formulés les vœux du chirurgien. C'est à l'obtention de ces qualités — dites couramment qualités des 3-S — que s'exercent toute l'habileté et la science des fabricants d'objets de pansements.

Pour quelqu'un de non prévenu il semble, *a priori*, que ces propriétés sont faciles à obtenir, mais le désenchantement arrive bientôt, dès que l'on veut passer de la théorie à la pratique. On constate rapidement que, souvent, le procédé capable d'assurer une bonne stérilisation compromet la solidité du fil, et que la solidité elle-même n'est parfois obtenue qu'au détriment de la souplesse.

Chargé de la vérification des fils à ligature livrés au Service de Santé militaire, ou fabriqués par ce Service, nous avons pu, au cours de cette année, nous livrer à toute une série d'essais en vue d'étudier les meilleures méthodes pour obtenir un *catgut* parfait.

Nous avons trouvé, à l'Institut Pasteur, l'hospitalité la plus large et la plus bienveillante. Les conseils les plus judicieux nous furent prodigués par MM. Roux et Borrel et, lorsque nos essais nous conduisirent à cette conclusion que la stérilité et la

solidité des catguts devaient s'obtenir par des moyens nouveaux, leur encouragement à persévérer dans cette voie nous fut un guide des plus précieux.

Nous avons rencontré en MM. Pauleau et Pellerin des chefs attentifs à suivre nos essais et à en faciliter la mise à exécution. Nous sommes d'autant plus heureux de leur adresser nos remerciements que nous n'avons pas toujours reçu semblable encouragement dans d'autres administrations.

Il y a quelques années, désireux d'étudier la stérilisation des catguts, nous avons obtenu de M. Mesureur, directeur de l'Assistance publique, le plus bienveillant accueil et les crédits les plus larges. Au bout de quelques mois, nos essais furent arrêtés brusquement par l'intransigeance d'un ingénieur, dont l'ingérence en cette question ne se comprend pas très bien.

En renouvelant ici nos remerciements à M. Mesureur pour l'intérêt témoigné à nos recherches, nous regrettons que cette étude n'ait pu être faite pour le bénéfice moral et matériel d'une Administration à laquelle nous sommes entièrement dévoué.

PREMIÈRE PARTIE

Le catgut est préparé avec l'intestin grêle de mouton. A l'abattoir, les boyaux sont vidés du résidu alimentaire ; ils subissent ensuite un traitement spécial chez les boyaudiers.

Pour éviter toute confusion, nous allons dès maintenant donner des appellations définitives aux différents matériaux obtenus aux cours des opérations.

A l'aide d'un instrument spécial, l'intestin est tout d'abord grossièrement raclé, puis fendu suivant les deux extrémités d'un diamètre. Nous appellerons boyaux les intestins ainsi divisés longitudinalement et dont *la flore microbienne est intacte*.

Ces fragments sont mis à macérer dans des solutions de carbonate de sodium ou de soude caustique. Les ouvriers raclent ensuite la muqueuse interne de ces boyaux, que l'on conserve dans les solutions alcalines jusqu'au moment du filage. Le contact avec les solutions de carbonate de sodium ou de

soude peut donc se prolonger pendant vingt-quatre, quarante-huit heures, et même trois jours, suivant l'intensité du travail.

A la fin de cette macération, certains boyaudiers traitent ces produits par l'eau oxygénée ou l'acide sulfureux, en vue de les blanchir. Nous appellerons *lanières* les demi-boyaux ainsi raclés après macération dans les solutions de carbonate de soude, et traités ou non par les antiseptiques.

Les lanières, réunies par 2, 3, 4, 5, sont tordues au moyen d'une sorte de rouet de cordier, fixées sur des cadres en bois, où la dessiccation s'opère. On obtient ainsi les *cordes*. Les *cordes commerciales* sont toujours poncées, polies, et, le plus souvent, huilées.

Nous réservons le mot *catgut* pour la corde commerciale qui a subi une série d'opérations pharmaceutiques en vue de la rendre stérile.

Le matériel que nous avons employé consiste :

- 1° En cordes commerciales (1), nos 3 et 4 ;
- 2° En cordes commerciales, nos 3 et 4, mises à macérer dans des bouillons de culture ;
- 3° En cordes préparées par nous-même avec des boyaux ;
- 4° En cordes préparées avec des lanières stériles (2) et infectées au moment de la torsion avec des cultures microbiennes.

On enroule 25 à 30 centimètres de ces différentes cordes sur des tubes de verre de 4 centimètres de longueur et 7 millimètres de diamètre.

Les microbes ayant servi à infecter les cordes sont :

- 1° Une culture de tétanos riche en spores ;
- 2° Un mélange de bouillons de tétanos, vibron septique, staphylocoque ;
- 3° Les microbes existant normalement dans les boyaux ;
- 4° Un bouillon ensemencé avec de la terre de jardin, qui avait été souillée par précaution avec les bouillons n° 2. Quelques centigrammes de cette terre séchée à l'étuve servent à ensemencer un bouillon dans lequel sont alors plongés nos test-objets constitués par la corde commerciale enroulée sur de petites bobines. Après macération de vingt-quatre à trente-six heures, on retire ces bobines, on fait sécher à l'étuve pendant sept à huit jours ; on a alors un matériel infecté qui peut se prêter à tous les essais.

(1) Cordes commerciales, de la maison T....., qui ont servi pour toutes ces expériences.

(2) Lanières obtenues stériles par macération pendant vingt-quatre heures dans de l'eau oxygénée au tiers.

Nous nous sommes rapidement rendu compte que les microbes existant normalement dans la terre étaient beaucoup plus résistants que ceux ajoutés par nous. En particulier, nous y avons rencontré le *B. mesentericus* (bacille de la pomme de terre), qui a résisté à deux chauffages d'une heure à 134 degrés dans la vapeur de benzine (1). Par la suite, nous avons donc surtout visé la destruction de ce micro-organisme dans les test-objets préparés avec le bouillon ensemencé avec cette terre.

L'emploi de ce bacille, que le hasard nous a fait seul choisir, est des plus judicieux. La spore de ce bacille est très résistante, et l'on peut dire que les méthodes qui parviendront à la détruire seront probablement efficaces pour toutes les autres spores. La culture de ce bacille ne peut prêter à aucune erreur d'interprétation concernant une contamination accidentelle, parce que le bouillon ensemencé par ce microbe dégage une odeur désagréable.

Les méthodes de stérilisation que nous avons étudiées sont :

- 1° La stérilisation par l'iode;
- 2° La stérilisation par les essences (Essence de genièvre, Eucalyptol);
- 3° La stérilisation par tyndallisation dans l'alcool à 90° (chauffage à 60 degrés, 10 heures par jour, pendant cinq jours), procédé employé par le Service de Santé militaire;
- 4° La stérilisation par chauffage à diverses températures dans les liquides anhydres;
- 5° La stérilisation par chauffage à diverses températures dans des vapeurs de liquides anhydres.

Examinons séparément chacun de ces procédés.

STÉRILISATION PAR L'IODE.

La stérilisation des cordes par contact avec une solution iodée se pratique généralement de la façon suivante :

Après les traitements préliminaires que l'on fait subir aux cordes, les bobines sont introduites dans des tubes en verre préalablement stérilisés au four à flamber. On y verse, en quantité suffisante, une solution iodo-iodurée à 0,50 p. 100. On laisse en contact vingt-quatre heures, puis on décante le liquide et on le remplace par de l'alcool stérile à 70, 80 ou 90°, sui-

(1) En partant de test-objets ainsi traités, nous avons pu obtenir une culture pure de ce bacille.

vant que l'on désire obtenir un catgut plus ou moins souple. Le tube est fermé à la lampe ou avec un bouchon de caoutchouc stérilisé; dans ce cas, on paraffine la fermeture.

Ces catguts restent colorés et imprégnés d'iode; ils doivent être utilisés assez rapidement, car à la longue ils perdent de leur solidité.

Si l'on veut obtenir des catguts ne contenant plus d'iode libre, on doit, après enlèvement du liquide iodé, les traiter par une solution stérile d'hyposulfite de sodium et carbonate de sodium. On laisse en contact douze heures, puis on décante cette solution, que l'on remplace par de l'alcool stérile. On termine comme précédemment. Le catgut est blanc, légèrement jaunâtre, et renferme de l'iodure de potassium que l'on peut déceler par les réactifs habituels.

La préparation de ce catgut à l'iode demande beaucoup de soins, surtout pour la seconde méthode qui comporte plusieurs manipulations en tube ouvert.

Nous avons vérifié l'action stérilisante de l'iode sur les cordes commerciales, les cordes faites avec des boyaux, et sur les cordes infectées avec ce que nous appelons pour commodité « bouillon de terre ».

Les solutions employées au cours des manipulations sont les suivantes :

Solutions iodo-iodurées.

<i>Solution à 1 p. 100.</i>			<i>Solution à 0,50 p. 100.</i>		
Iode	4 gr. »		Iode	0 gr. 50	
Iodure de potassium	2 gr. »		Iodure de potassium	1 gr. »	
Alcool à 90°	20 gr. »		Alcool à 90°	20 gr. »	
Eau distillée. . . q. s. p.	100 gr. »		Eau distillée. . . q. s. p.	100 gr. »	

Solution d'hyposulfite et carbonate de sodium.

Carbonate de sodium	10 grammes.
Hyposulfite de sodium.	10 —
Eau distillée	980 —

Les test-objets sont laissés des temps variables dans les solutions iodées, puis retirés et mis dans des tubes à essais contenant la solution stérile d'hyposulfite et de carbonate de sodium, jusqu'à décoloration. On remplace ensuite cette solution par du bouillon que l'on renouvelle au bout de 24-48 heures, si cela est nécessaire.

Action de la solution iodée à 0,50 p. 100.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	12 heures.	1	3	"
	24 heures.	1	Stériles.
	48 heures.	2	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	12 heures.	1	3	"
	24 heures.	2	4	"
	48 heures.	3	5	"
	4 jours.	5	6	"
	8 jours.	9	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans le « bouillon de terre ».	12 heures.	29	1	"
	24 heures.	29	1	"
	48 heures.	30	2	"
	3 jours.	31	3	"
	4 jours.	1	5	"
	6 jours.	3	6	"
	10 jours.	8	13	"
	15 jours.	13	19	"
	20 jours.	19	Stériles.

Action de la solution iodée à 1 p. 100.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	12 heures.	1	3	"
	24 heures.	1	Stériles.
	48 heures.	2	Stériles.
Cordes préparés avec des boyaux, au laboratoire.	12 heures.	1	3	"
	24 heures.	2	4	"
	48 heures.	3	5	"
	4 jours.	5	6	"
	8 jours.	9	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans le « bouillon de terre ».	12 heures.	29	1	"
	24 heures.	29	1	"
	48 heures.	30	2	"
	3 jours.	31	3	"
	4 jours.	1	5	"
	6 jours.	3	6	"
	10 jours.	8	13	"
	13 jours.	13	20	"
	20 jours.	19	Stériles.

Conclusions. — La stérilisation des cordes commerciales « bien préparées » par une solution iodée demande un minimum de 24 heures.

La stérilisation des cordes infectées est longue et ne peut être obtenue qu'au bout de 15 à 20 jours.

Le titre de la solution en iode est moins important que la durée du contact avec la solution iodée.

STÉRILISATION PAR LES ESSENCES.

L'immersion des cordes dans les essences peut conduire à leur stérilisation. On a très souvent recommandé l'essence de genièvre, mais nous avons très rapidement constaté que ce liquide était insuffisant et avons alors employé l'eucalyptol qui se trouve en abondance et à un prix relativement abordable. Les deux tableaux suivants montrent la différence de cette action.

Les bobines sont laissées en contact avec le liquide pendant un laps de temps variable, puis mises dans un vase stérile avec de l'éther anhydre. On remplace l'éther deux fois. On porte ensuite en bouillon peptone Martin, que l'on renouvelle au bout de quelques jours. S'il ne s'est pas produit de culture, on met quelques tubes en culture anaérobie (vide avec lavage à l'hydrogène) et l'on porte quelques test-objets en gélose Veillon.

Action de l'essence de genièvre.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES (*) de la mise EN BOUILLON	DATES de la culture DU BOUILLON	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	2 jours.	5	8	»
	4 jours.	5	10	»
	6 jours.	8-13	15	»
	8 jours.	10-13	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans bouillon de tétanos, vibron septique et staphylocoque.	2 jours.	7	8 en aérobie et anaér.	»
	4 jours.	10	13 <i>id.</i>	»
	8 jours.	15	18 <i>id.</i>	»
	12 jours.	20	24 <i>id.</i>	»
	20 jours.	28	31 <i>id.</i>	»

(*) Le second et le troisième chiffre indiquent les dates de renouvellement du bouillon.

Action de l'eucalyptol.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	2 jours.	3-4	7	"
	4 jours.	5-6	8	"
	6 jours.	7-20-22	Stériles.
Cordes commerciales infectées par immersion dans bouillon de tétanos, vibrien septique et staphylocoque.	2 jours.	7	9	"
	4 jours.	10-20-22	aérobie et anaérobie.	Stériles.
	8 jours.	13-20-22	<i>id.</i>	Stériles.
	12 jours.	20-22	<i>id.</i>	Stériles.

De ces premiers essais, il ressort que l'eucalyptol est un excellent liquide pour obtenir une stérilisation des catguts. Toutefois, son action est plus lente lorsqu'on le fait agir sur des spores situées à l'intérieur même de la corde, surtout lorsqu'elles sont très résistantes, comme celles du *B. mesentericus*.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	2 jours.	24-25	26 aérobic.	" " Stériles.
	4 jours.	25-27	26 gél. Veillon.	
	6 jours.	2-4	28 gél. Veillon.	
Cordes préparées avec des lanières stériles et infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	2 jours.	19-20	21 aérobic.	" " Stériles.
	4 jours.	21-22	21 gél. Veillon.	
	8 jours.	26-28	23 aérobic. 23 gél. Veillon.	
Cordes commerciales infectées avec du " bouillon de terre ".	2 jours.	6-8	9 aérobic.	" " " " Stériles.
	4 jours.	8-9	11 anaérobic.	
	8 jours.	12-15	10 aérobic.	
	15 jours.	13-20-25	12 anaérobic.	
	20 jours.	21-25-30	20 aérobic. 30 1 tube gél. Veillon.	

L'action de l'eucalyptol dépend plus de sa facilité de pénétration à l'intérieur de la corde que de la nature de la spore. 5 à 6 jours paraissent suffisants pour stériliser la corde commerciale bien préparée, mais la durée de contact va en augmentant avec les cordes infectées. Il est bien évident toutefois que l'action de l'eucalyptol sera plus rapide sur des spores dont la paroi aura été modifiée par des macérations prolongées dans la solution de carbonate de sodium ou de soude caustique.

On peut démontrer cette action retardatrice, due à la difficulté de pénétration de la corde, par les expériences suivantes. Du papier filtre est enroulé de façon à obtenir trois ou quatre épaisseurs superposées; on coupe ces rouleaux de papier de façon à former de petits tubes de 4 à 5 centimètres de longueur, maintenus enroulés par une ligature au fil de lin. Ces test-objets sont infectés en transportant au moyen d'une pipette effilée des cultures très riches en spores entre les diverses épaisseurs du papier. On laisse sécher à l'étuve à 37 degrés. Ce sont ces tubes de papier que l'on plonge dans l'eucalyptol et que l'on transporte en bouillon peptone Martin, gélose Veillon, après un lavage suffisant à l'éther. On peut voir qu'un contact de quelques jours suffit pour détruire les spores les plus résistantes, comme celle de *B. mesentericus*.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Tubes de papier infectés avec une culture de tétanos.	2 jours.	20-23	22 aérobie.	» Stériles.
	4 jours.	22-23	25 gélose Veillon.	
	6 jours.	28-29	30 gélose Veillon.	
			
Tubes de papier infectés avec « bouillon de terre ».	2 jours.	20-23	23	» Stériles. Stériles.
	4 jours.	22-23	
	6 jours.	24-29	
			

Conclusions. — La corde commerciale « bien préparée » est facile à stériliser par un court séjour dans les essences. L'eucalyptol, principe constitutif de l'essence d'eucalyptus, se montre

plus particulièrement actif. Une immersion de quelques jours suffit pour rendre la corde stérile.

Pour une corde infectée, le séjour doit être prolongé; mais peut-on admettre qu'au bout de 15 ou 20 jours une corde de grosseur moyenne, préparée avec des boyaux ou infectée avec *B. mesentericus* sera rendue stérile? L'action de l'eucalyptol semble efficace, quoique retardée par la résistance qu'offre la corde à la pénétration de l'essence. Nous n'oserions affirmer qu'il en sera de même dans tous les cas.

L'essence de genièvre s'est montrée peu active; — aussi son emploi, souvent préconisé, doit être rejeté.

STÉRILISATION PAR TYNDALLISATION.

La méthode de tyndallisation employée par le Service de Santé militaire consiste en un chauffage discontinu de dix heures par jour, pendant cinq jours, à la température de 60 degrés, dans l'alcool à 90°. Les bobines sont introduites dans les tubes stérilisés au four à flamber, et recouvertes d'alcool.

Tyndallisation dans l'alcool à 90°.

NATURE DES OBJETS	TEMPS de CONTACT	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	5 jours.	30-31	»	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	5 jours.	30-31	6	»
Cordes préparées avec des lanières stériles et infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	5 jours.	30-31	»	Stériles.
Cordes infectées avec « bouillon de terre ».	5 jours. 10 jours.	21-24 31	28 en aérobie. 5 gélose Veillon. 4 id.	» »

Les tubes, après fermeture à la lampe, sont plongés dans un bain-marie maintenu à la température constante de 60 degrés. C'est cette méthode que nous avons suivie pour nos essais de stérilisation, qui ont porté sur des cordes infectées de différentes façons.

Après stérilisation, les test-objets sont retirés et déposés dans des tubes de bouillon. On renouvelle le bouillon une ou plusieurs fois, si cela est nécessaire et, comme précédemment, on fait des cultures en anaérobie (vide et lavage à l'hydrogène) et en gélose Veillon.

On voit que la tyndallisation est suffisante pour stériliser des cordes commerciales, et même pour des cordes fortement infectées, mais échoue lorsqu'on se trouve en présence de spores très résistantes. Toutefois, la vitalité de ces spores est fortement atteinte, puisque leur développement est lent à se produire. Nous avons répété ces essais de nombreuses fois, mais nous ne sommes jamais arrivé à un résultat satisfaisant. Au bout d'un temps plus ou moins long, les tubes finissaient toujours par cultiver en partie ou en totalité. En prolongeant la tyndallisation pendant dix jours, on n'arrive pas davantage à une stérilisation complète. On obtient de meilleurs résultats en ajoutant à l'alcool 10 à 20 p. 100 d'eucalyptol. Nos essais de stérilisation par tyndallisation en milieu alcoolique eucalyptolé ont presque toujours été positifs pour la corde commerciale infectée par immersion dans le bouillon de terre.

Il n'est pas possible de diminuer le titre alcoolique sans amener une diminution notable de la solidité de la corde.

D'autre part, on ne peut se servir d'alcool à un titre supérieur à 90°, dans le but de pratiquer la tyndallisation à une température plus élevée, sans nuire à la souplesse du catgut. Cette modification se ferait d'ailleurs au détriment de la stérilisation, et l'on courrait le risque d'avoir des produits non stériles. C'est ainsi que les expériences de tyndallisation avec des liquides anhydres nous ont montré le rôle indispensable de l'eau.

Par contre, de bonnes cordes commerciales sont parfaitement stériles après une tyndallisation de cinq jours dans les liquides anhydres. Nous avons encore ici un exemple frappant de la

facilité avec laquelle on peut obtenir la stérilisation des cordes bien préparées.

Tyndallisation de cinq jours dans les liquides anhydres.

NATURE DES OBJETS	NATURE du LIQUIDE	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	30-31	5 aérobie. 5 gélose Veillon.	»
Cordes préparées avec lanières stériles, puis infectées avec tétanos, au moment de la torsion.	Alcool à 100°.	30-31	2 aérobie. 10 gélose Veillon.	»
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	5	6	»
	Benzine.	5	6	»
	Acétone.	5	6	»
	Chloroforme.	5	6	»

Conclusions. — La tyndallisation est un excellent procédé de stérilisation des cordes. Les cordes commerciales « bien préparées » sont parfaitement stériles après cinq jours. Pour les cordes fortement infectées, la méthode de tyndallisation n'est pas suffisante, même en prolongeant le temps de chauffe.

On peut obtenir des résultats meilleurs en opérant avec de l'alcool eucalyptolé. L'alcool doit contenir le plus d'eau possible, car la stérilisation par tyndallisation ne peut être obtenue avec des liquides anhydres. Toutefois le titre de l'alcool ne peut être abaissé au-dessous de 90° sans produire une diminution notable de la solidité.

STÉRILISATION PAR LA CHALEUR EN LIQUIDES ANHYDRES.

La stérilisation par la chaleur en liquide anhydre se fait au-dessus de 100 degrés. A cette température, l'emploi de liquide anhydre est indispensable, car en milieux même légèrement aqueux, la corde serait transformée en gélatine. Les

liquides que l'on emploie couramment sont : l'alcool absolu, le chloroforme, l'acétone, la benzine. Nous avons employé des liquides rigoureusement anhydres : alcool absolu distillé de l'alcoolat de baryte au moment du besoin, benzine, acétone, chloroforme, redistillés et séchés sur sulfate de soude et filtrés au moment de l'emploi. Dans certaines expériences nous avons préparé les mêmes liquides légèrement hydratés. L'alcool absolu et l'acétone préparés précédemment ont été additionnés de 1 p. 100 d'eau. La benzine et le chloroforme ont été saturés d'eau par agitation avec un excès de ce liquide. L'emploi de ces liquides légèrement aqueux semble donner de meilleurs résultats au point de vue stérilisation, mais est désastreux pour la solidité de la corde.

Les bobines introduites dans le tube plongent complètement dans le liquide et le tube fermé à la lampe est mis directement dans l'autoclave.

Stérilisation à 120 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des liquides ANHYPRES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	Alcool absolu. Acétone absolu. Chloroforme. Benzine.	10-16 15-16 15-16 15-16	Stériles. Stériles. Stériles. Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool absolu. Acétone absolu. Chloroforme. Benzine.	1-3 1-3 1-3 1-3	5 5 5 5	» » » »
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool absolu. Acétone absolu. Chloroforme. Benzine.	2-3 2-3 2-3 2-3	6 6 6 6	L'alcool absolu, additionné de 1 p. 100 d'eau, se comporte comme l'alcool absolu.

La température de 120 degrés n'est pas suffisante pour tuer des spores résistantes. Un second chauffage de une heure à 120 degrés pratiqué vingt-quatre heures après le premier (catgut

polyautoclavé) ne nous a pas donné de meilleurs résultats : la série des 4 test-objets a donné des cultures en bouillon au bout de trois jours. Nous avons donc opéré à une température plus élevée : 127 degrés.

Stérilisation à 127 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des liquides ANHYDRES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	15-16	18	»
	Alcool à 99°.	15-16	19	Un échant. est resté stérile.
	Acétone absolu.	15-16	18	»
	Acétone à 99°.	15-16	19	»
	Chloroforme.	15-16	17	»
	Chlorof. aqueux.	15-16	19	»
	Benzine.	15-16	17	»
	Benzine aqueuse.	15-16	17	»
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	15-16	Stériles.
	Chloroforme.	15-16	Stériles.
	Acétone absolu.	15-16	20	»
	Benzine.	15-16	18	»

Une expérience semblable faite en employant l'alcool et l'acétone absolus additionnés de 1 p. 100 d'eau, et le chloroforme et la benzine saturés d'eau nous ont donné le même résultat. Les test-objets traités par le chloroforme, la benzine et l'acétone, n'ont pu être stérilisés à cette température ; un échantillon traité à l'alcool est resté stérile.

Par un second chauffage de une heure à 127 degrés, vingt-quatre heures après le premier, les cordes mises dans le chloroforme (1) étaient stériles, les autres ont donné des cultures. Devant cet insuccès, nous avons alors porté la température à 134 degrés.

Le traitement à la benzine n'est pas donc suffisant pour assurer la stérilisation par un chauffage d'une heure. Il ne l'est pas toujours après un second traitement semblable.

(1) Pendant la fermeture des tubes au chalumeau, il y a toujours production d'un peu d'acide chlorhydrique qui intervient probablement pour faciliter la stérilisation.

Stérilisation à 134 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	12-13	Stériles.
	Chloroforme.	12-13	Stériles.
	Acétone.	12-13	17	»
	Benzine.	12-13	17	»

Conclusions. — La stérilisation des cordes commerciales « bien préparées » par chauffage en milieu anhydre est facile. Elle se fait à la température de 120 degrés maintenue pendant une heure; avec les cordes infectées il faut porter la température à 127 ou 134 degrés suivant le liquide employé. L'alcool est préférable, puis le chloroforme, enfin l'acétone. L'emploi de la benzine n'est guère recommandable. La technique qui consiste à stériliser deux fois après un intervalle de vingt-quatre heures ne présente pas de bien grands avantages.

STÉRILISATION PAR LA CHALEUR DANS LES VAPEURS
DE LIQUIDES ANHYDRES.

Dans cette méthode, au lieu de faire plonger complètement les bobines dans les liquides stérilisants, on verse VIII à X gouttes de ces liquides sur un tampon de coton placé au fond du tube de verre. Les tubes, fermés à la lampe, sont traités comme précédemment. Cette méthode a déjà été employée par Répin (1) sur les indications de M. Roux. Il opérait uniquement avec l'alcool. Nous avons opéré avec l'alcool et l'acétone absolus et avec les mêmes liquides additionnés de 1 p. 100 d'eau, avec la benzine et le chloroforme séchés sur sulfate de soude et les mêmes solvants saturés d'eau.

La température de 120 degrés n'est pas suffisante pour obtenir une stérilisation absolue. Un second traitement pratiqué vingt-quatre heures après le premier reste tout aussi inefficace.

(1) RÉPIN, Un procédé sûr de stérilisation du catgut. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, p. 170-177, 1894.

Stérilisation à 120 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales.	Alcool à 100°.	15-16	Stériles.
	Acétone absolu.	15-16	Stériles.
	Chloroforme.	15-16	Stériles.
	Benzine.	15-16	Stériles.
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Alcool à 100°.	2-3	5	»
	Acétone absolu.	2-3	5	»
	Chloroforme.	2-3	5	»
	Benzine.	2-3	5	»
Cordes commerciales infectées avec du « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	2-3	5	»
	Acétone absolu.	2-3	5	»
	Chloroforme.	2-3	5	»
	Benzine.	2-3	5	»

Nous avons donc refait les mêmes expériences à 127 et à 134 degrés.

Stérilisation à 127 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes commerciales infectées avec du « bouillon de terre ».	Alcool à 100°.	15-17	Stériles.
	Chloroforme.	15-17	Stériles.
	Acétone absolu.	15-17	19	»
	Benzine.	15-17	19	»

La benzine et l'acétone ne donnent pas de meilleurs résultats par un second traitement effectué dans les mêmes conditions; on a alors opéré à 134 degrés avec différentes cordes.

Un second chauffage d'une heure à 134 degrés, vingt-quatre heures après le premier, ne suffit pas toujours à rendre les test-objets stériles.

Stérilisation à 134 degrés pendant une heure.

NATURE DES OBJETS	NATURE des LIQUIDES	DATES de la mise EN BOUILLON	DATES de la CULTURE	OBSERVATIONS
Cordes préparées avec des boyaux, au laboratoire.	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13 16	Stériles. »
Cordes préparées avec des lanières stériles. puis infectées avec culture de tétanos au moment de la torsion.	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13 16	Stériles. »
Cordes commerciales infectées avec « bouillon de terre ».	Acétone absolu. Benzine.	10-13 10-13 14	Stériles. »

Conclusions. — L'emploi des vapeurs de liquides anhydres semble préférable à celui des liquides eux-mêmes. Peut-être que les vapeurs, ne rencontrant pas ici une masse de liquide interposée jouant un rôle protecteur, pénètrent plus facilement à l'intérieur de la substance.

Les cordes commerciales « bien préparées » sont stérilisées à 120 degrés pendant une heure ; les cordes infectées demandent une température de 127 ou 134 degrés, suivant les liquides. L'emploi de l'alcool est préférable ; celui de la benzine est à rejeter. La technique consistant en deux stérilisations successives, avec intervalle de vingt-quatre heures, n'est pas très recommandable.

DEUXIÈME PARTIE

Des expériences précédentes il résulte très nettement que les *cordes commerciales* « bien préparées » sont très faciles à stériliser par les diverses méthodes employées : action de l'iode, des essences, tyndallisation et stérilisation par la chaleur sous pression dans les liquides ou vapeurs anhydres.

Il n'en est plus de même lorsqu'on essaie les mêmes méthodes sur une corde infectée avec des bacilles à spores résistantes. On voit que dans ces conditions les limites que l'on s'était assignées pour obtenir la stérilisation doivent être reculées, et l'on peut même hésiter à fixer ces limites.

Il ne nous est guère possible de dire quelle est la méthode que l'on doit préférer. Ni l'iode, ni l'eucalyptol, ni la tyndallisation, ni la stérilisation en liquides ou vapeurs anhydres ne nous donnent un résultat satisfaisant. Dans nos essais, nous avons pu obtenir la stérilisation complète, mais ces expériences, répétées plusieurs fois, il est vrai, n'ont porté chaque fois que sur trois ou quatre échantillons. Nous ne pouvons donc pas savoir comment se comporteraient ces méthodes dans des milliers de cas.

Puisque la stérilisation de la corde commerciale est si facile, alors que celle des cordes infectées est si difficile, à quoi cela tient-il? C'est donc que les traitements auxquels les boyaudiers soumettent les boyaux sont suffisants pour détruire une grande partie des bactéries et diminuer la résistance des spores par une sorte de mordantage de leur paroi. En fait, l'immersion prolongée dans la solution de carbonate de sodium et surtout de soude, indispensable pour pouvoir racler plus facilement la muqueuse interne, est suffisante pour éliminer et détruire une grande partie des microbes. Nous avons pu isoler des boyaux, avant tout traitement chimique, huit micro-organismes dont trois anaérobies; le même boyau, après traitement au carbonate de sodium, ne contient plus que deux anaérobies et deux aérobies. Le coli, abondant dans le premier cas, faisait presque défaut dans le second où, par contre, le *B. subtilis* pullulait.

Enfin, les boyaudiers ont l'habitude de laisser les lanières dans l'eau oxygénée pendant quelques heures et de les soumettre à l'action de l'acide sulfureux. Ce traitement, qui vise plus l'obtention d'une corde de belle qualité que sa stérilisation complète, n'est pas sans action sur la flore bactérienne des boyaux. Nous avons trouvé des lanières qui, traitées de cette façon, ne contenaient plus d'anaérobies et très peu d'aérobies.

Pourquoi alors ne pas faire subir aux lanières un traitement chimique suffisant pour amener leur stérilisation complète?

On aurait alors une corde commerciale presque stérile, ou tout au moins qui ne serait plus souillée que par les micro-organismes de l'air et des mains. En tout cas, ces cordes ne seraient plus infectées en profondeur, et l'obtention du catgut se réduirait à une stérilisation *en surface* des cordes ainsi préparées.

Il nous a semblé que les efforts des fabricants de catguts devraient tendre vers l'obtention de cordes stériles, bien plus qu'à l'application de méthodes de stérilisation chimiques ou physiques à des cordes commerciales préparées un peu au hasard.

Nous avons donc fait quelques essais pour déterminer les conditions nécessaires pour amener une stérilisation complète des lanières. On a employé :

1° Une solution d'hypochlorite de sodium à 100 milligrammes de chlore actif par litre ;

2° La même solution, rendue acide par addition d'acide acétique ;

3° L'eau iodée à 4/1000 ;

4° L'eau oxygénée au 1/3, neutralisée par du borate de sodium ;

5° L'acide chromique à 5/1000 ;

6° La solution de fluorure de sodium à 10/1000 ;

7° La solution de formol à 5 et 10 p. 100 ;

8° La solution d'acide sulfureux à 10/1000.

Les boyaux, transportés intentionnellement sans précautions spéciales, sont fendus (1), raclés, puis plongés dans des quantités suffisantes de liquides antiseptiques. On a prélevé des fragments au bout de quatre, six, vingt-quatre heures.

Ceux-ci, transportés dans des boîtes de Petri stériles, sont traités par des liquides appropriés (hyposulfite, carbonate, etc.) pour enlever l'excès du réactif. On les porte ensuite en bouillon peptone Martin et gélose Veillon, après les avoir débarrassés de l'hyposulfite, du carbonate, par un contact de quelques heures dans l'eau distillée stérilisée.

(1) Certains boyaudiers font les grosses cordes en tordant les boyaux non fendus ; c'est là une pratique déplorable, qui peut être bonne pour la fabrication des cordes d'instruments de musique, mais qui ne devrait pas être employée pour les cordes destinées à la chirurgie. On conçoit très bien que l'action des solutions chimiques ne peut se produire dans ces conditions.

NATURE ET TITRE des SOLUTIONS	TEMPS de CONTACT	RÉSULTAT DES CULTURES	OBSERVATIONS
Chlore 100 mgr. par litre en milieu non acidifié.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières gonflées et gélifiées à la surface. Paraissent peu résistantes mais peuvent cependant être tordues facilement.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon — 1 cultivate.	
Chlore 100 mgr. par litre en milieu acidifié par l'ac. acétique.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultivate (*). 2 t. G. Veillon. »	Lanières résistantes à surface non gélifiée.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Eau iodée à 1/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultivate. 2 t. G. Veillon — 1 cultivate.	Lanières paraissant plus résistantes qu'avant le traitement. Surface un peu sèche.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Eau oxygénée au 1/3 neutralisée par le borate de sodium.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 1 cultivate.	Lanières très blanches un peu gonflées et gélifiées.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Acide chromique à 5/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 1 cultivate. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières très résistantes semblent tannées. Surface sèche.
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Formol à 3 p. 100.	6 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	»
	24 heures.	2 t. B. aérobie. » 2 t. G. Veillon. »	
Acide sulfureux à 10/1000	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	Lanières gélifiées et peu résistantes surtout au bout de 24 heures.
	24 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	
Fluorure de sodium à 10/1000.	6 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	»
	24 heures.	2 t. B. aérobie — 2 cultivent. 2 t. G. Veillon — 2 cultivent.	

(*) Après trois jours.

Dans le tableau ci-contre (p. 24), nous résumons le résultat de ces recherches au bout de six et vingt-quatre heures. Dans la colonne « observations » nous mettons les indications concernant l'état physique de la lanière ainsi traitée.

Des lanières, stérilisées par un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau oxygénée au tiers, ont été réinfectées par immersion de vingt-quatre heures dans un bouillon de tétanos riche en spores, puis traitées par les réactifs précédents.

L'action antiseptique de ces solutions s'est confirmée en ce qui concerne la différence d'action du chlore en milieu acide ou légèrement alcalin.

Chlore 100 mg/1000 milieu non acidifié.	Non stériles après 6 heures; stériles après 24 heures.
Chlore 100 mg/1000 milieu acidifié . . .	Stériles après 6 heures.
Eau oxygénée.	Stériles après 6 heures.
Eau iodée à 1/1000	Stériles après 6 heures.
Acide chromique 5/1000.	Stériles après 6 heures.
Formol 5 p. 100	Stériles après 6 heures.
Fluorure de sodium 10/1000	Non stériles après 24 heures.

Les meilleurs procédés pour obtenir des lanières stériles sont ceux à l'eau oxygénée, à l'eau iodée, au formol et à l'acide chromique. Ces deux derniers sont à rejeter, car ils donnent des catguts non résorbables ou très difficilement résorbables. D'ailleurs les cordes préparées avec des lanières traitées par l'acide chromique ne sont pas homogènes. La surface de ces lanières est trop sèche et la corde semble formée de fils accolés, ne présentant entre eux qu'une faible adhérence.

Les cordes les plus belles d'aspect sont obtenues avec l'eau oxygénée ou le chlore en milieu non acidifié. La gélification qui se produit à la surface des lanières, et qui nuit à la stérilisation en empêchant le chlore de pénétrer à l'intérieur du tissu, est, par contre, la cause de cet avantage. Pendant la torsion, les lanières sont agglomérées, collées en quelque sorte par cette gelée, et forment une corde homogène présentant une plus grande résistance.

Il est bien évident que cette qualité pourrait se conférer à des lanières préalablement stérilisées à l'iode, l'eau oxygénée, etc.; il suffirait pour cela de les plonger pendant quelques heures seulement dans la solution d'hypochlorite. De

même, les avantages que certains chirurgiens demandent à des catguts légèrement chromés s'obtiendraient par un séjour très court, dans l'acide chromique, des lanières stérilisées par un autre agent chimique. On conçoit même que l'on puisse faire varier à l'infini les substances qui agiraient, soit pour amener la stérilisation des lanières, soit pour donner aux catguts des propriétés toutes spéciales. Il y a là un large champ laissé à l'initiative des fabricants d'objets de pansement.

Nous avons essayé la résistance des cordes préparées avec ces lanières stériles, car on pouvait craindre que les traitements prolongés par des substances chimiques ne diminuent considérablement leur solidité.

Au sortir des solutions antiseptiques, les lanières sont débarrassées de l'excès de réactifs : par macération dans une solution d'hyposulfite et de carbonate de sodium jusqu'à décoloration, puis lavage prolongé à l'eau pour les produits traités par le chlore ou l'iode ; par une solution de carbonate de sodium et lavage à l'eau pour les lanières à l'eau oxygénée ; par une solution faible de bisulfite et de carbonate de sodium, avec lavage à l'eau pour le traitement à l'acide chromique ; par un lavage à l'eau très légèrement ammoniacale pour les lanières formolées. Ces lanières ont été tordues avec des moyens de fortune, et tous les fabricants de catguts qui les ont examinées les ont trouvées plus résistantes que les cordes commerciales ordinaires. D'ailleurs leur résistance, essayée au dynamomètre Van Ackère et Brunner, sur une longueur de 50 centimètres, a donné les résultats suivants :

NATURE DE LA CORDE	DIAMÈTRE	N ^o DE LA CORDE	RÉSISTANCE	RÉSISTANCE des cordes commerciales d'après DEBUCHY.	ÉLASTICITÉ
Cordes au chlore alcalin.	0mm50	1	3 kil. 500	3 kil. 500	5 cent. »
Cordes au chlore acide.	0mm60	2	9 kil. »	7 kil. 500	9 cent. »
Cordes à l'iode.	0mm60	2	8 kil. 500	7 kil. 500	8 cent. »
Cordes à l'eau oxygénée.	0mm60		8 kil. »	7 kil. 500	8 cent. »
Cordes à l'acide chromique.	0mm50	1	6 kil. »	8 kil. 500	9 cent. 50
Cordes au formol.	0mm60	2	6 kil. »	7 kil. 500	5 cent. 50

Devant ces résultats encourageants, nous avons entrepris la fabrication des cordes sur une plus grande échelle et avec des moyens plus appropriés.

Les boyaux étaient prélevés aussitôt l'animal tué, et immédiatement mis dans une glacière portative, permettant leur transport au laboratoire dans les meilleures conditions. Cette précaution a surtout pour but d'éviter le développement des bactéries et la production des spores. En outre, elle arrête l'autolyse des tissus et leur digestion par les trypsines microbiennes. C'est uniquement à ces actions digestives que certaines cordes commerciales doivent leur peu de solidité.

Les boyaux transportés au laboratoire sont traités le plus tôt possible. Ils sont fendus, puis raclés et mis dans la solution antiseptique choisie. Ils sont alors transportés dans une autre pièce et manipulés par un personnel différent, de façon à éviter une réinfection possible au cours des manipulations postérieures à leur stérilisation. Ils sont tordus, séchés et polis dans une pièce non poussiéreuse et facile à nettoyer (1).

Les cordes ainsi préparées sont roulées comme d'habitude et enfermées dans des bouchons bouchant à l'émeri. Nous évitons de les huiler, puisque le pharmacien est obligé, dans le cours des manipulations, d'effectuer un traitement long et coûteux pour enlever cette huile (2). (A vrai dire, nous ne savons si cette modification est heureuse et s'il n'est pas nécessaire d'huiler la corde pour assurer sa conservation). Nos cordes ont été transformées en catguts peu de temps après leur fabrication, et les pharmaciens auraient, croyons-nous, tout intérêt à suivre cette pratique.

Conclusions. — La préparation des cordes solides et stériles peut se faire en recueillant les boyaux le plus tôt possible après la mort de l'animal et en les conservant dans certaines condi-

(1) En opérant de cette façon et manipulant les lanières stériles avec des gants de caoutchouc stérilisés, nous avons pu préparer une corde à l'iode complètement aseptique. Après vingt-quatre heures de séjour dans la pièce on a prélevé 15 centimètres de cette corde, et l'on a ensemencé 5 à 6 tubes de bouillon et 5 à 6 tubes de gélose Veillon. Un seul tube de bouillon nous a donné une culture de *B. subtilis*. Cette expérience toute théorique montre jusqu'à quel degré de perfectionnement peut être poussée la fabrication des cordes pour catguts.

(2) Les lanières renferment environ 1,50 à 2 p. 100 de matière grasse; les cordes commerciales près de 3 p. 100.

tions pour éviter un commencement de digestion fermentaire ou autolytique des tissus. Le froid peut remplir ce rôle, en même temps qu'il empêchera le développement des microbes et la formation des spores.

Un traitement chimique approprié peut conduire à l'obtention de lanières stériles, avec lesquelles les cordes seront préparées. Ces fils à ligature ne seront plus infectés qu'à leur surface au cours des manipulations ultérieures et leur stérilisation sera rendue de ce fait beaucoup plus facile.

Il y aura lieu de séparer complètement l'atelier de préparation des boyaux de l'endroit où se pratiquera le traitement chimique des lanières et la fabrication de la corde, pour éviter toute cause possible de réinfection.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° La préparation d'un catgut *stérile et solide* dépend plus de la fabrication de la corde que des moyens mis en œuvre pour assurer la stérilisation de cette corde une fois terminée. Avec une corde bien préparée, et en prenant toutes les précautions indispensables pour éviter une réinfection des boyaux par contact, la préparation d'un catgut stérile est facile à obtenir par les différents procédés précédemment étudiés. Avec une corde infectée, la stérilisation est très difficile. On peut même conclure que *sans cordes bien préparées* (1) il n'est pas de catguts stériles.

2° Les infections secondaires dues aux catguts et constatées par les chirurgiens proviennent de ce qu'une corde, un fragment de corde, a été réinfecté au cours de sa fabrication par contact avec un matériel ou des matériaux qui n'ont pas subi l'action des agents chimiques employés au traitement des lanières. Ainsi s'expliquent les contestations entre chirurgiens et pharmaciens au sujet des catguts : les premiers récriminant pour un fil qui a produit une suppuration, les seconds faisant remarquer que les autres catguts du même lot de fabrication ne produisent aucun accident (2).

(1) Sous la dénomination de « bien préparées » nous entendons une corde faite en se conformant aux notions élémentaires d'asepsie bactériologique.

(2) Nous ne parlerons pas des infections secondaires dues à des fautes de technique, comme par exemple l'oubli de flamber la surface du tube avant sa rupture.

3° Les essais que nous avons faits sur la corde commerciale n'ont donc de valeur que pour le lot de cordes qui a servi à nos expériences.

4° La préparation des cordes à partir des *lanières aseptiques* est la seule solution à donner à cette question. On assurera ainsi la *stérilité* et la *solidité* des catguts. Il est indispensable que cette fabrication des cordes soit faite par les pharmaciens qui assumeront ainsi toute la responsabilité de leur fabrication.

5° A défaut d'une fabrication spécialisée par le pharmacien, les boyaudiers devraient installer, en vue de la préparation des cordes à catguts, un traitement particulier des boyaux. Ceux-ci seraient prélevés aussitôt l'animal tué, et immédiatement mis dans des glacières portatives, permettant leur transport à l'atelier dans les meilleures conditions. Au cours de la même journée, les boyaux seraient complètement traités et les lanières mises dans les solutions antiseptiques ; on *supprimerait ainsi la fermentation* que l'on fait actuellement subir à ces matières. Un séjour de 48 heures dans l'eau oxygénée à 50 p. 100 semble suffisant pour amener la stérilisation des lanières.

A partir de ce moment il est indispensable que les *lanières soient transportées dans un local différent de celui où s'est faite l'opération du raclage*. Elles seraient manipulées (filage et torçage) par un *personnel spécial*, et sur un *matériel imputrescible et facile à désinfecter*. C'est en effet au cours de ces deux manipulations que les cordes sont le plus susceptibles d'être réinfectées ; cette partie du travail est celle qui demande la plus grande surveillance.

6° Les cordes ainsi préparées, en se *conformant aux notions élémentaires d'asepsie bactériologique*, pourraient être stérilisées par les diverses méthodes indiquées, savoir :

1° Une immersion de 24-48 heures dans la solution iodée ;

2° Une immersion de 7-8 jours dans l'eucalyptol ;

3° Une tyndallisation de 5 jours à 60°, pendant 10 heures par jour, dans l'alcool à 90° ;

4° Un chauffage à 120° dans des liquides ou vapeurs anhydres, de préférence l'alcool absolu.

Il serait facile d'imaginer d'autres méthodes tout aussi efficaces, tant est facile la stérilisation d'une corde bien préparée.

Pour les cordes infectées, ces limites doivent être considérablement reculées et les considérations pratiques qui interviennent rendent alors l'emploi de ces méthodes presque impossible. Une immersion de 6-8 jours dans une solution iodée risque d'altérer la corde; une immersion de 15-20 jours dans l'eucalyptol n'est guère compatible avec une fabrication un peu importante. La tyndallisation, à moins d'être faite en milieu alcoolique eucalyptolé, n'est pas suffisante, même en prolongeant le temps de chauffe. La stérilisation en liquides ou vapeurs anhydres devra se faire à 127 ou 134° pendant une heure. Ces limites n'ont, d'ailleurs, de valeur que pour les microbes ayant servi à l'infection de nos test-objets; mais, étant donnée la résistance assez grande des spores de *B. mesentericus*, on pourrait admettre, à la rigueur, qu'elles seront suffisantes pour toutes les bactéries (1). Il conviendrait toutefois de répéter ces expériences sur des milliers et des milliers de cas; bien que nos essais renouvelés plusieurs fois aient toujours donné des résultats concordants, nous n'oserions affirmer qu'ils seront positifs pour tous les test-objets mis en expériences. Une spore bien protégée peut parfois résister à l'un des traitements précédents.

Avec des cordes obtenues en suivant nos indications, quelle est la méthode de choix pour la préparation des catguts?

On peut, au point de vue des manipulations, les classer en deux groupes : 1° celles qui nécessitent une manipulation en tube ouvert; 2° celles où la stérilisation se fera en tube fermé. Elles ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Les premières sont les méthodes à l'iode ou à l'eucalyptol. Elles permettent le transport du catgut dans un liquide stérile assouplissant convenablement choisi. Il en est de même de la stérilisation en vapeurs anhydres, à moins de faire cette opération en tube ou en appareil fermé, et d'introduire le liquide assouplissant au moyen de dispositifs particuliers, le plus souvent brevetés.

(1) Il est bien évident qu'elles seraient inefficaces pour une bactérie comme celle qu'a signalée M. Portier. (Résistance aux agents chimiques de certaines races du *B. subtilis* provenant des insectes. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXLI, p. 397, 27 septembre 1915.)

Cette manipulation, consistant à introduire un liquide stérile dans un tube ou à transporter un catgut dans un tube stérile, ne rencontre guère l'assentiment des chirurgiens. Elle n'offre cependant pas de bien grands inconvénients lorsqu'elle est faite par un personnel bien stylé. Elle est bien moins dangereuse que la préparation d'un catgut à partir d'une corde faite en dehors de toute surveillance compétente.

Le meilleur liquide assouplissant est l'alcool ou l'acétone, contenant 20 à 25 p. 100 d'eau et, au besoin, 5 à 10 p. 100 de glycérine.

Le liquide de choix serait certainement le bouillon qui porterait en lui-même la garantie d'une bonne stérilisation, mais son emploi rencontre encore certaines préventions de la part des chirurgiens. Cette solution, préconisée par Répin (1) dans son important travail sur la stérilisation du catgut, serait certainement la meilleure conclusion que l'on puisse donner à cette question du catgut.

Les méthodes de stérilisation en tube fermé sont la tyndallisation et le chauffage en liquides anhydres (alcool, chloroforme, acétone). Ce dernier procédé ne présente pas de grands avantages; il donne un catgut vrillé peu maniable, et l'on doit lui faire subir une immersion plus ou moins prolongée dans le sérum physiologique, quelques instants avant l'opération.

La tyndallisation est plus recommandable; l'alcool à 90° donne bien un catgut un peu raide, mais permettant cependant de faire des nœuds sans trop de difficultés, car ce fil s'hydrate très facilement au contact des tissus. D'ailleurs, on peut l'assouplir légèrement par addition de 5 à 10 p. 100 de glycérine anhydre à l'alcool à 90°.

Pour conclure, nous donnons la préférence à cette dernière méthode, pratiquée sur des cordes « bien préparées » ayant subi au préalable une immersion de 7 à 8 jours, à la température ordinaire ou à une température plus élevée, dans l'eucalyptol.

Si les chirurgiens n'étaient pas incommodés par l'odeur d'eucalyptol, nous proposerions encore plus volontiers une

(1) RÉPIN, Un procédé sûr de stérilisation du catgut. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VIII, p. 170-177, 1894.

tyndallisation de 5 jours à 60°, à raison de 10 heures par jour, dans le liquide suivant :

Alcool à 90°	80 grammes.
Glycérine	40 grammes.
Eucalyptol	10 grammes.

Ils auraient ainsi à leur disposition un catgut stérile et *suffisamment souple*.

Nous avons la conviction qu'en opérant sur des cordes préparées avec des *lanières stériles*, les accidents dus aux catguts disparaîtraient à jamais des salles de chirurgie.

HÉRÉDITÉ DE LA RAGE

(DEUXIÈME NOTE)

par le Dr DANIEL KONRADI,

Professeur agrégé de l'Université, adjoint de l'Institut.

[Travail de l'Institut de pathologie et thérapeutique générale de Kolozsvár (Hongrie),
Directeur : Professeur J. Lőte.]

Dans mon travail traitant de cette question, dont le *premier* article a paru en 1904 et le *deuxième* en 1908, j'ai démontré que *la matière infectieuse de la rage se transmet de la mère à l'embryon*. Dans ces deux articles, j'ai fait connaître en détail la bibliographie de la question et j'ai expliqué de quelle manière le virus se communique et quelles transformations il subit pendant ce processus. Si maintenant à la suite de mes nouvelles expériences et observations je m'occupe de cette question une *troisième* fois, l'explication se trouve dans ce fait que la littérature sur le sujet, parue depuis 1908, contient trois communications contradictoires. Parmi ces communications il y en a deux (Dammann et Hasenkamp, et l'une des expériences de Miessner-Kliem et Kapfberger) qui ont, il est vrai, un résultat affirmatif; la troisième (Repetto), par contre, est négative ainsi que la deuxième expérience de Miessner-Kliem et Kapfberger. Cependant elles s'accordent toutes les trois en un point : c'est qu'elles glissent rapidement sur la question sans la trouver digne de l'attention qu'elle mérite. En outre, aucun des auteurs ne prend la peine d'attacher de l'importance aux articles traitant de cette question et parus dans la même revue que les leurs, dans le courant des années antérieures. Si l'auteur qui conclut au résultat négatif (Repetto) l'avait fait, il est plus que probable qu'il aurait disposé autrement son expérience. Mais examinons cette expérience :

Repetto, assistant du professeur Fermi qui dirige l'institut expérimental de l'université de Sassari, rapporte qu'un chien enragé s'est introduit dans une ferme et a mordu 24 moutons. Parmi ceux-ci 14 ont contracté la maladie dans un espace de

25 jours environ. Il y avait parmi les animaux malades des brebis portantes. Dans la corne d'Ammon de la mère, il a trouvé beaucoup de corpuscules de Negri et les deux rats blancs qu'il a inoculés sous la peau avec ces particules de cerveau sont morts de la rage 14 jours après l'inoculation. Dans la corne d'Ammon de l'agneau il n'a pas trouvé de corpuscules de Negri, mais pourtant il a injecté de cette matière et de la moelle épinière sous la peau de deux rats, qui sont restés en vie.

Repetto a aussi recherché le virus dans le lait trait des mamelles, et il en a injecté, sous la peau, à 5 souris blanches, 1 cent. cube à chacune d'elles; toutes les 5 sont restées en vie.

De même il a injecté, sous la peau, du liquide amniotique à 5 souris blanches et à chaque souris de nouveau la quantité de 1 cent. cube; elles sont également restées en vie.

Voilà les expériences à l'aide desquelles Repetto arrive aux conclusions que l'infection de la rage ne se transmet pas de la mère au fœtus comme Pasteur, Celli, De Blasi et Zagari l'ont déjà démontré; — Perroncito, Cavita et Loir ont prouvé le contraire — les corpuscules de Negri, ne pénétrant pas à travers le placenta, ne peuvent se trouver dans le fœtus; de même le liquide amniotique et le lait ne contiennent pas de virus — en ce qui concerne cette dernière matière, Pasteur, Celli, De Blasi et Zagari l'ont déjà déclaré.

En examinant minutieusement la description détaillée de l'expérience, il ressort que Repetto s'est rendu fautif d'une omission importante en n'indiquant pas le temps pendant lequel il a observé les animaux inoculés avec le virus d'agneau. Cependant une longue observation est très importante pour prononcer un jugement exact dans des cas pareils; je l'ai déjà déclaré en 1904 et en 1908, j'ai insisté encore en attirant l'attention sur ce que Galli-Valerio, Remlinger et Joseph Koch ont trouvé nécessaire de dire en faisant allusion à mes expériences. Il faut observer longuement les animaux inoculés parce que le virus de la rage en traversant le placenta perd beaucoup de sa force et que le mal ne se déclare que longtemps après l'injection du virus. L'observation doit surtout être longue quand il s'agit d'injections faites sous la peau comme dans les expériences de Repetto. D'ailleurs on peut affirmer que ce genre d'inoculation n'est pas un moyen

sûr d'infection. Il aurait été désirable que, pour trancher cette question depuis si longtemps en litige, Repetto fit aussi des injections sous la dure-mère, car c'est le plus sûr moyen, surtout dans les cas où il s'agit de juger d'un virus qui a perdu de sa force. Nous connaissons, il est vrai, les expériences que Fermi a faites avec son virus sur des souris, expériences qui ont démontré que le virus de Sassari a donné la rage à toutes les souris inoculées sous la peau du côté gauche; seulement le virus était extrêmement fort, ce que Fermi fait remarquer lui-même. Mais nous savons aussi que d'autres auteurs, comme par exemple Galli-Valerio, n'ont pas obtenu un résultat aussi certain avec des souris; nous pouvons en dire autant en ce qui concerne Schindler.

Nous avons aussi fait quelques essais avec des souris pour nous convaincre si véritablement la souris est un animal favorable pour démontrer facilement et certainement la rage. Le 30 décembre 1912 nous avons inoculé sous la peau trois souris blanches avec du virus de la rage des rues qui, inoculé sous la dure-mère d'un cobaye et d'un lapin, a tué le premier après 17 jours, le deuxième après 19 jours. Parmi les trois souris il n'y en a qu'une qui ait contracté la rage après 22 jours, ce que nous avons vérifié en inoculant un cobaye. La deuxième souris est morte après 5 jours et la troisième, après huit mois, d'une autre infection. Le 17 janvier 1913 nous avons de nouveau inoculé 4 souris sous la peau avec un virus de même force. Il n'y en a que deux qui aient contracté la rage; l'une seulement au bout de 77 jours, l'autre au bout de 88 jours. La troisième a été dévorée par les autres et la quatrième est morte, six mois plus tard, d'une autre infection.

Nous voyons donc que ni l'animal ni le procédé ne donnent des résultats très certains pour l'étude de la rage, car si la souris contracte la maladie, ce n'est que très tard. Voilà pourquoi nous n'avons plus fait de telles expériences et nous avons conservé comme sujets les cobayes qui donnent des résultats précis dans tous les cas, comme nous l'avons déjà démontré en détail dans nos communiqués précédents.

Si nous considérons toutes ces choses, nous pouvons en conclure qu'il ne peut être tenu compte de l'expérience de Repetto pour trancher cette question. Cette expérience ne prouve rien

du tout; c'est pourtant grand dommage que son auteur n'ait pas profité d'une occasion si rare et en même temps si précieuse.

La deuxième expérience est celle qui résulte des observations faites par Danmann et Hasenkamp. Une lapine injectée d'un virus fixe mettait bas trois petits juste au moment où les premiers symptômes de la rage se manifestaient. Ces petits périrent trois jours après leur naissance. Dans leurs cerveaux il n'y avait pas de corpuscules de Negri, mais en faisant des inoculations intermusculaires avec la matière cérébrale de ces petits, les auteurs purent produire la rage. D'où il paraît — déclarent-ils — que la transmission de la rage de la mère au fœtus est possible. Ainsi, la question n'est pas mise assez en évidence, elle n'est énoncée que comme « possible ».

La troisième expérience est celle qui résulte des observations de Miessner-Kliem et Kapsberger. Dans une brebis qui est morte de la rage dix jours après avoir été inoculée avec un virus fixe, ils ont trouvé un agneau entièrement développé d'une longueur de 45 centimètres. Deux lapins inoculés sous la dure-mère avec la corne d'Ammon de l'agneau sont morts neuf jours après avec les symptômes caractéristiques de la rage. Dans une autre brebis infectée de la même manière, il y avait un agneau de 27 centimètres dont le cerveau ne contenait pas le virus. C'est tout ce que les auteurs écrivent sur cette question et ils n'indiquent pas même pendant combien de temps ils ont poursuivi leurs observations.

Non seulement ces communications s'occupent superficiellement de la question sans tenir compte des publications nouvelles, mais il en est de même du grand ouvrage collectif de Kolle-Wassermann dont la deuxième édition vient de paraître et dont tous les chapitres sont faits sous forme de monographie. Par exemple, au chapitre VI du premier volume, à la page 662, qui est de la plume de Wassermann et Keysser, il n'y a rien de plus dans cette nouvelle édition en ce qui concerne l'hérédité de la rage que dans la première édition. Pourtant depuis la première édition, parue en 1903, cette question a fait des progrès, comme je l'ai fait remarquer d'ailleurs immédiatement dans une lettre écrite en 1912 à Wassermann, sitôt après l'apparition du chapitre en question. Après cela j'en arrive à mes propres expériences.

PREMIÈRE SÉRIE.

Le 20 mai 1909, un enfant du nom d'Etienne N..., en traitement à l'Institut Pasteur de Budapest, est tombé malade quinze jours après avoir été mordu et montrait les symptômes de la rage. Il en est mort le 22 mai. Dans le but de faire des expériences, il nous a été expédié une petite quantité de ce virus dans de la glycérine phéniquée. Par suite d'une cause inconnue cet envoi ne nous est parvenu que le 28 mai, c'est-à-dire six jours après la mort de l'enfant. Après avoir débarrassé ce virus de la glycérine et après en avoir fait un ensemencement sur agar-agar sans résultat, nous en avons inoculé à une lapine sous la dure-mère et à deux cobayes profondément à côté de l'épine dorsale. Les cobayes périssaient 23 et 26 jours plus tard de la rage; le 12^e et le 13^e jour après la lapine indiquait un commencement d'état fiévreux, puis pendant 20 jours consécutifs sa température était redevenue normale. Alors un nouvel accès de fièvre se déclara pendant un jour, puis rien de particulier ne se fit remarquer sur elle jusqu'au 29 juin 1910 où elle périt de la rage, 13 mois après l'inoculation. Cette lapine avait mis bas, 33 jours après l'inoculation, c'est-à-dire le jour après la seconde augmentation de température, trois petits bien développés; cependant malgré tous les soins donnés ils périrent quatre jours plus tard. Le cerveau des petits était assez injecté, mais nous n'y avons pas découvert de corpuscules de Negri. Cependant avec tous les trois nous avons fait des inoculations sous la dure-mère à des lapins et à des cobayes. Nous avons fait aussi des ensemencements sur agar-agar avec chacun d'eux, ce qui nous a persuadé que leur mort n'a pas été causée par une infection étrangère.

23 jours après avoir été injecté avec le virus du premier petit, le cobaye montra pendant une période de cinq jours des symptômes caractéristiques et il succomba à la rage. Le lapin, par contre, resta en vie et pendant quatorze mois d'observation pas le moindre symptôme de rage ne se fit remarquer. Il est possible que, si nous avions pu prolonger l'observation, la rage aurait aussi fait son apparition, mais nous avons besoin du sujet pour une autre expérience.

Le cobaye infecté par le virus du deuxième petit contracta la rage comme le précédent et en fut victime en même temps, c'est-à-dire le 28^e jour. Le lapin, par contre, est mort d'une autre infection (pleuro-pneumonie) six mois après l'inoculation. Jusque-là il n'avait pas montré le moindre symptôme de rage.

Le cobaye injecté par le virus du troisième petit tomba malade aussi le 23^e jour; mais la période symptomatique ne dura que trois jours. Le lapin prit aussi la rage, mais après un temps extraordinairement long; il n'est mort que 723 jours après l'inoculation. Nous avons trouvé beaucoup de corpuscules de Negri dans sa corne d'Ammon.

Afin de nous rendre compte des transformations subies pendant la longue période symptomatique par le virus provenant du deuxième petit et inoculé au cobaye, nous l'avons transplanté de celui-ci à un autre cobaye et à un lapin, sous la dure-mère. Cette fois aussi le cobaye mourait de pure rage 28 jours après l'inoculation, avec cette différence que la période symptomatique ne dura qu'un jour et non cinq jours comme dans le cas précédent. Le lapin de son côté périssait de la rage pure 539 jours plus tard. Ainsi donc le virus ne s'était pas renforcé, mais — comme je l'ai déjà fait remarquer dans ma première communication et dans la deuxième aussi — il est resté ainsi affaibli dans les inoculations ultérieures.

Cette série prouve donc que, dans les petits mis bas 33 jours après l'inoculation de la mère, et presque un an avant sa mort causée par la rage, on peut démontrer la présence du virus par voie d'inoculation.

Cette expérience montre encore combien le virus provenant de la rage humaine perd de sa force après avoir été pendant six jours dans la glycérine phéniquée.

DEUXIÈME SÉRIE.

Le 8 juin 1911, nous avons inoculé deux cobayes sous la dure-mère avec un virus qui, après avoir passé à travers une grenouille, a été transmis à un cobaye et ce virus en était déjà à sa neuvième génération. Parmi ces cobayes une femelle a mis bas le 4 septembre trois petits entièrement sains et bien

développés et dont le père, enfermé dans la même cage, était le deuxième cobaye inoculé. Après cela aussi la mère s'est bien portée et ce n'est que le 1^{er} décembre, soit 174 jours plus tard, qu'elle périt après une période symptomatique de vingt-quatre heures. La preuve que la rage a causé la mort de la mère se trouve dans ce fait que le cobaye inoculé en même temps qu'elle, est mort le même jour de la rage pure, car nous y avons trouvé beaucoup de corpuscules de Negri. En outre, en continuant l'inoculation sous la dure-mère sur deux cobayes, l'un est mort au bout de vingt-trois jours, l'autre au bout de vingt-sept jours, tous les deux avec les symptômes de la rage ; et donnant suite à la série nous avons toujours obtenu le virus pur à travers plusieurs générations.

Ce qui est frappant dans ce cas, c'est la longue incubation de la maladie chez la mère ainsi que chez le père ; comme nous l'avons vu, elle a duré 174 jours. Cela est d'autant plus étonnant que le cobaye de la génération précédente et duquel ces deux-ci avaient été inoculés est mort au bout de 38 jours. De même les cobayes inoculés avec leur virus ont succombé dans un temps beaucoup plus court : 23 jours et 27 jours. Nous ne pouvons fournir d'autre explication que la suivante : c'est que les deux sujets en question étaient grands et bien développés — ils pesaient de 700 à 800 grammes chacun — et capables de résister plus longtemps au mal.

Les petits, ayant atteint un état de développement suffisant, furent séparés pour les soustraire à la possibilité d'être mordus par leur père et leur mère dans le cas où la maladie se déclarerait sur eux. C'est à cette fin qu'à l'âge de trois semaines les petits furent placés dans un endroit séparé et soumis à la plus grande surveillance pour empêcher toute contamination possible. Ils se développèrent très bien. Mais examinons les phénomènes de la vie de chacun d'eux.

Le 20 novembre *le premier* pesait 200 grammes et n'avait montré jusque-là rien de suspect ; cependant le 26 novembre, c'est-à-dire à l'âge de 84 jours, il fut pris de tremblements, il était agité et incertain dans son équilibre. Le jour suivant il était paralysé et périt après trois jours de maladie. En examinant son cerveau nous y découvrîmes quantité de corpuscules de Negri. Cette découverte, prouvant à elle seule la présence

de la rage, n'était cependant pas suffisante pour nous; nous fîmes l'inoculation sous la dure-mère de son virus à un cobaye et à un lapin. Le cobaye mourait au bout de 24 jours; le lapin, par contre, résista assez longtemps et ce n'est qu'au bout de 215 jours, après une période symptomatique de 3 jours, qu'il était pris à son tour de la rage pure.

Le deuxième petit pesait aussi 200 grammes le 20 novembre. Le 2 décembre suivant, c'est-à-dire à l'âge de 90 jours, il périssait de la rage dans des conditions analogues au précédent et aussi après une période symptomatique de 3 jours. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri et nous avons inoculé de son virus à un cobaye et à un lapin sous les méninges. Le cobaye succombait au bout de 20 jours, le lapin au bout de 159; le premier après une période symptomatique de 2 jours, l'autre après une période de 4 jours.

Le troisième petit pesait aussi 200 grammes le 20 novembre. Le 3 décembre, soit à l'âge de 91 jours, il tombait malade et périssait après une période symptomatique de 2 jours. Comme les précédents il contenait des corpuscules de Negri, mais malgré cela nous injectâmes son virus à un cobaye et à un lapin sous les méninges. Le cobaye prit la maladie au bout de 21 jours, le lapin au bout de 161 jours et ils périrent, le premier, après une période symptomatique de 3 jours, et le second, après une période de 4 jours.

Si nous analysons avec attention les données qui se rapportent aux trois petits, nous y découvrirons plusieurs circonstances dignes d'intérêt et qui demandent peut-être plus d'explications. La toute première a trait à la naissance des petits. Ils sont nés 88 jours après l'inoculation de la mère, temps pendant lequel la maladie était à l'état latent, et 86 jours avant que le mal se déclare chez elle. Et dans ces descendants le virus existait aussi, ce qui est prouvé, non seulement par le mal qui s'est déclaré en eux, mais aussi par la présence des corpuscules de Negri et par l'infection caractéristique qui s'est développée sur les autres sujets inoculés avec leur virus. Pour nous, cette circonstance n'était pas absolument extraordinaire car dans mon deuxième travail sur le même sujet, j'ai fait part d'observations analogues: Une lapine avait mis bas, 18 jours après l'inoculation, mais 9 jours

avant l'apparition du premier accès de fièvre — premier symptôme de la rage, — deux petits vivants qui sont morts dans les 24 heures. Nous avons prouvé chez les petits la présence du virus par inoculation sur d'autres animaux. Les autres symptômes caractéristiques ne se sont présentés sur la lapine en question que beaucoup plus tard; plus tard que chez les cobayes dont nous avons parlé ici et la mort n'est survenue que 487 jours après la naissance des petits. Ainsi *le virus circule pendant un temps très long avant la mort dans le sang de la mère et parvient avec celui-ci à travers le placenta jusqu'au fœtus*. Je ne veux pas examiner à nouveau cette question en détail, mais pour éviter la répétition je me contenterai de renvoyer à mon deuxième travail traitant de cette question et où j'ai développé minutieusement ces circonstances en me basant en partie sur des infections naturelles humaines et en partie sur des expériences.

Une autre circonstance encore plus frappante, c'est que *ces petits aient vécu si longtemps* et qu'ils se soient si bien développés; comme nous l'avons vu, le premier a contracté la maladie à l'âge de 84 jours, le deuxième à 90 jours et le troisième à 94 jours. On peut objecter que les petits ont été infectés de rage après leur naissance, et cela d'autant plus que, parmi les observateurs qui m'ont précédé, aucun n'a pu démontrer la présence du virus dans des descendants ayant vécu un temps si long. Et pourtant je prétends que ce virus vient des parents parce que, comme je l'ai déjà fait remarquer plus haut, toutes les précautions ont été prises, isolement le plus complet dans un lieu absolument propre n'ayant jamais été contaminé par des animaux atteints de rage. J'ai cherché à empêcher ainsi toute infection ultérieure. Il ne peut être question que du virus ancestral, car cela est prouvé par ce fait que *ces petits ont manifesté le mal à peu près tous en même temps et après une période symptomatique plus longue* qu'il n'est d'habitude chez des sujets si jeunes. Je l'ai déjà dit dans mon travail précédent, cette période est généralement très courte, comme nous le savons aussi par une communication de Remlinger qui a trait à la question. Ce qui le prouve encore, c'est que le virus pris de ces petits et inoculé à des cobayes et des lapins n'a produit la rage qu'après un état latent très long, phénomène

qui n'a pas lieu lorsque le virus inoculé est de provenance externe. Cela répond parfaitement à la conclusion tirée à la suite de la série précédente de mes expériences : ce fait ne peut trouver son explication que dans *l'affaiblissement du virus*.

Cette expérience fournit aussi des données très intéressantes, et au point de vue pratique très importantes, sur la question suivante : *Pendant combien de temps le virus peut-il circuler dans le sang d'un animal atteint de la rage avant que les symptômes caractéristiques n'apparaissent et pendant combien de temps l'animal peut-il communiquer l'infection avant sa mort?* Pour compléter les observations analogues citées dans mon deuxième travail, qu'il me soit permis de citer le cas suivant très intéressant d'ailleurs qui est arrivé depuis lors :

Le 18 mars 1912, un petit chien avait mordu le fils d'un propriétaire. Le lendemain on nous amena le chien afin de l'observer. Nous n'avons rien remarqué de suspect pendant plusieurs jours; il mangeait de bon appétit et se réjouissait quand le domestique lui apportait sa nourriture. Le 29 mars, soit onze jours plus tard, il mordait de telle manière un autre chien enfermé dans la même cage que celui-ci en eut la mâchoire brisée en trois parties. Le 30 mars, le museau rempli de bave, il essayait furieusement de ronger les barreaux en fer de sa cage; le 31, il était mort. Comme nous n'avons rien remarqué de suspect pendant les jours qui suivirent celui où il avait mordu l'enfant, nous avons recommandé d'attendre avant de commencer le traitement antirabique prophylactique; cependant sitôt que les symptômes se manifestèrent nous envoyâmes l'enfant à l'Institut Pasteur de Budapest où le traitement se fit avec succès, puisqu'il vit encore.

Cependant ce chien, comme nous l'avons établi plus tard, *avait mordu un autre chien quatorze jours avant sa mort; celui-ci périssait aussi, chez nous, trente-neuf jours après avoir été mordu, avec tous les symptômes caractéristiques de la rage.*

Donc dans ces cas-ci, il est question d'un chien qui, *treize jours avant sa mort et onze jours avant l'apparition des symptômes, avait mordu un enfant. Nous avons recommandé à cet enfant le traitement prophylactique*, parce que, nous basant en partie sur nos propres expériences publiées déjà et en partie sur les données de Zagarrío, nous savions que la *morsure*

est dangereuse même treize jours avant l'apparition des symptômes caractéristiques de la rage.

Voilà pourquoi nous avons été très surpris à l'apparition de la monographie d'Heiler et Rothermundt (*Wutschutzimpfung und Wutimmunität*, parue fin décembre 1913), en voyant à la page 921, où ils traitent du traitement prophylactique, et en se rapportant à Marie et à Remlinger, comment ils indiquent au docteur la ligne de conduite à suivre; nous lisons que, si le chien vit encore dix jours après avoir occasionné la morsure et s'il est en bonne santé, le traitement antirabique n'est pas nécessaire. Nous pensons que c'est un conseil qui peut avoir des conséquences funestes parce que, si nous nous rapportons au cas présent, nous voyons que nous aurions exposé ce jeune garçon aux graves suites de l'infection puisque, comme nous l'avons dit, le chien mordu par le même animal un jour avant l'enfant a aussi contracté le mal. Nous le savons parfaitement bien et d'ailleurs, nous l'avons aussi fait observer dans notre deuxième travail traitant du même sujet : il est très difficile de se prononcer et la question de savoir s'il faut recommander ou non le traitement prophylactique dans un cas analogue au nôtre, c'est-à-dire quand le chien n'est pas absolument suspect, cause souvent un grand embarras même aux hommes compétents en pathologie de la rage. Mais nous pensons que, si les circonstances qui accompagnent la morsure peuvent éveiller le moindre soupçon, il est prudent de faire exécuter le traitement prophylactique dans sa plus petite mesure et d'observer l'animal pendant quatorze jours. Si les symptômes caractéristiques se déclarent, il est urgent de compléter le traitement; sinon, nous n'aurons pas nui avec cette inoculation préalable. Par contre, si nous négligeons le traitement prophylactique, il peut en coûter la vie à la victime et pour notre compte nous ne voulons pas supporter les conséquences d'une telle possibilité.

TROISIÈME SÉRIE.

Quand le cobaye femelle dont nous avons parlé dans la série précédente est mort le 1^{er} décembre 1911 avec tous les symptômes caractéristiques de la rage, nous avons trouvé intérieurement deux fœtus parvenus à mi-développement. Le

père ne pouvait être que le mâle qui a été mentionné avec la mère dans la série précédente. Il était enfermé dans la même cage et avait subi la même inoculation. Il a succombé le même jour que la femelle et de la même infection caractéristique. Cela est très intéressant parce que la même mère qui a mis bas le 4 septembre était de nouveau portante presque trois mois plus tard, lors de sa mort. Ces fœtus en étaient à 15-20 jours depuis la fécondation, parce que chez les cobayes la période de la grossesse varie entre 30 et 35 jours, et ainsi ils avaient à peu près leur demi-développement (1).

Nous avons examiné ces fœtus avec soin afin d'y découvrir des corpuscules de Negri, mais nous n'en avons trouvé aucune trace. Avec le même soin nous avons opéré séparément l'inoculation de leur virus dans des cobayes différents.

Le cobaye inoculé sous les méninges avec le virus du *premier* fœtus périssait 29 jours après; celui inoculé de la même manière avec le virus du *deuxième* fœtus mourait après 30 jours. Tous les deux avaient eu l'infection caractéristique qui s'était manifestée par une période symptomatique d'un jour. Ils sont donc morts quelques jours plus tard que les cobayes injectés avec le virus de la mère, car ces derniers n'ont vécu que 23 jours et 27 jours après leur inoculation.

Ainsi dans ce cas, un mâle infecté de la rage et une femelle dans les mêmes conditions produisent, de 15 à 20 jours avant leur mort, des fœtus dans lesquels l'expérience a prouvé l'existence du virus. Dans ce cas-ci une nouvelle question peut aussi se poser : l'infection n'était-elle pas conceptionnelle ?

QUATRIÈME SÉRIE.

Le 3 septembre 1913 nous avons inoculé profondément à côté de la colonne vertébrale, une chienne du poids de 7 à 8 kilogrammes, avec le bulbe d'un chien qui, après avoir subi une pareille inoculation, est mort 21 jours plus tard de la rage caractéristique. Le 5 novembre, soit 63 jours après l'inoculation, cette chienne a mis bas six petits entièrement développés. Leur père était un chien en bonne santé.

(1) RICHET, *Dictionnaire de Physiologie*, t. III, p. 930.

Nous avons séparé immédiatement les petits de leur mère et les avons placés en lieu sûr et très propre pour les nourrir artificiellement, car nous avions à craindre l'apparition de la rage à tout moment chez la mère, et cela d'autant plus que le cobaye et le lapin qui avaient été inoculés semblablement et avec la même matière étaient morts de la rage, l'un le 12^e jour, après une période symptomatique de vingt-quatre heures, l'autre le 13^e jour, après une période symptomatique de quatre jours. Ce n'est que *onze jours* plus tard que la rage se déclara chez la chienne et la tua après une période symptomatique de vingt-quatre heures.

Le sort des petits fut le suivant :

Le 16 novembre, *le premier* petit, après avoir vécu *11 jours*, est mort subitement; nous l'avons trouvé froid et raidi. Au premier moment nous avons pensé qu'il avait été victime du froid, mais nous y avons découvert des corpuscules de Negri et nous avons inoculé son virus à un cobaye sous les méninges. Ce cobaye périssait 18 jours après l'inoculation de la rage caractéristique et pure.

Le deuxième est mort le 17 décembre après avoir vécu *43 jours*. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé sous les méninges avec son virus a péri après 21 jours de la rage pure.

Le troisième a été trouvé crevé le 5 janvier 1912 à l'âge de *deux mois*. Il contenait une grande quantité de corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé avec son virus sous les méninges est mort au bout de 11 jours après une période symptomatique de vingt-quatre heures. Le lapin, par contre, inoculé de même a vécu assez longtemps. Ce n'est que le 5 février 1913, juste treize mois plus tard, qu'il a succombé à l'infection pure.

Le quatrième petit est mort subitement le 9 janvier après avoir vécu *66 jours*. Nous y avons découvert aussi des corpuscules de Negri. Le cobaye inoculé de son virus sous les méninges a péri après quinze jours avec tous les symptômes caractéristiques de la rage.

Le cinquième périt le 11 janvier, c'est-à-dire le *68^e jour* après sa naissance; la période symptomatique dura vingt-quatre heures. Dans la corne d'Ammon, il y avait beaucoup de cor-

puscules de Negri. Le cobaye inoculé de ce virus est mort après vingt jours de la rage pure et caractéristique.

Le sixième est mort le 12 janvier après avoir vécu *69 jours*. Nous y avons aussi découvert des corpuscules de Negri et le cobaye inoculé de ce virus a péri au bout de vingt et un jours avec tous les symptômes de la rage pure.

Pour pouvoir embrasser d'un coup d'œil le résultat de toutes nos expériences sur ce sujet, nous avons dressé le tableau synoptique suivant qui comprend toutes les séries d'expériences parues déjà dans mes deux travaux ainsi que les nouvelles faites depuis lors.

Il résulte de mes expériences précédentes et des nouvelles faites depuis lors le résumé suivant :

RÉSUMÉ.

1. La matière infectieuse de la rage se transmet de la mère au fœtus, mais dans ce processus elle s'affaiblit; c'est pourquoi la rage se déclare graduellement de plus en plus tard au fur et à mesure que le virus s'éloigne de son origine.

2. Dans cette transmission il ne paraît pas y avoir de différence entre les espèces d'animaux, car elle a lieu chez le chien, le lapin, le cobaye et probablement chez les autres animaux aussi.

3. Pour ces expériences et pour obtenir des résultats probants de l'inoculation, il ne faut pas employer le lapin mais le cobaye, et l'injection doit se faire sous les méninges. Le cobaye, étant plus sensible à la rage, donne des solutions plus rapides et plus certaines aux questions en litige. Le lapin, par contre, ne prend la rage que très tard ou pas du tout. Ce retard est un facteur dont on n'a pas tenu compte jusqu'à présent et c'est pourquoi les auteurs qui n'expérimentent qu'avec des lapins ou d'autres animaux arrivent à des conclusions erronées.

4. Il est aussi très important de prolonger le temps des observations si l'on fait des expériences sur les cobayes, parce qu'ils contractent aussi le mal beaucoup plus tard que ceux qui sont inoculés avec le virus de la mère.

5. Le virus circule déjà dans le sang de l'animal infecté de la rage lorsque la fièvre qui est le premier symptôme de la rage

NOMBRE de la série.	DE QUEL ANIMAL sont les DESCENDANTS ?	TROUVÉS DANS LE CADAVRE, OU NÉS VIVANTS et dans ce dernier cas combien de temps ont-ils vécu ?		INOCULÉS AVEC LE VIRUS DU FŒTUS	
				COBAYES	LAPINS
I.	Cobaye.	4 fœtus dans le cadavre.		Deux. après 91 jours. Un. après 92 jours. Un. après 96 jours. Quatre. après 98 jours. Deux. après 45 jours. Du I, deux après 24 jours. Du II, un. . . après 21 jours. Du III, un. . . après 53 jours. Du IV, un. . . après 18 jours. Du V, un. . . après 22 jours. Du VI, un. . . après 22 jours. Du VII, un. . . après 19 jours. Du VIII, un. . . après 49 jours. Du IX, un. . . après 23 jours. Du X, un. . . après 23 jours. Du XI, un. . . après 24 jours. Du XII, un. . . après 20 jours. Du XIII, un. . . après 21 jours. Du XIV, un. . . après 29 jours. Du XV, un. . . après 30 jours. Du XVI, un. . . après 18 jours. Du XVII, un. . . après 21 jours. Du XVIII, un. . . après 41 jours. Du XIX, un. . . après 45 jours. Du XX, un. . . après 20 jours. Du XXI, un. . . après 21 jours.	Un après 405 jours. Un après 415 jours. Un après 229 jours. Un après 78 jours.
II. III.	Lapine. Lapine.	4 fœtus dans le cadavre. 2 petits vivants, ont vécu 1 jour			
IV.	Chienne.	7 fœtus dans le cadavre.			
V.	Lapine.	3 petits vivants, ont vécu 4 jours			Un qui est resté en vie. Mort d'autre infection.
VI.	Cobaye.	3 petits vivants : I, a vécu 84 jours. II, a vécu 90 jours III, a vécu 91 jours.			Un après 725 jours. Un après 245 jours. Un après 459 jours.
VII.	Cobaye.	2 fœtus dans le cadavre.			Un après 161 jours.
VIII.	Chienne.	6 petits vivants : I, a vécu 41 jours II, a vécu 43 jours III, a vécu 61 jours IV, a vécu 66 jours V, a vécu 68 jours VI, a vécu 69 jours			Un après 43 mois.

expérimentale fait son apparition au commencement de la période symptomatique. Avec le sang elle se transmet de la mère au fœtus, des semaines et même des mois avant la mort.

6. La morsure du chien est déjà dangereuse quatorze jours avant l'apparition des symptômes caractéristiques cliniques.

BIBLIOGRAPHIE

- DAMMANN et HASENKAMP. — Einiges über Tollwut, II. Ist die Wut vererbbar? *Deutsche Tierärztl. Wochenschr.*, 1908, n° 32, p. 457. Ref. *Centr. f. Bakteriologie*, I. Abt. Ref. Bd XLIII, 1909, p. 697.
- FERMI. — Ueber die Verschleppung der Lyssa durch Ratten und Mäuse. *Centr. f. Bakteriologie*, I. Abt. Orig. Bd XLIII, p. 218.
- Können die Mäuse und die Ratten sich die Tollwut durch Genuss von Wutmaterial zuziehen? *Ibid.*, XLIII, p. 221.
- Die Empfänglichkeit der Muriden der subkutanen Wutinfektion gegenüber. *Ibid.*, XLIII, p. 173.
- Ueber die besondere Virulenz des fixen Virus des antirabischen Institutes zu Sassari. *Ibid.*, XLIX, p. 521.
- GALLI-VALERIO. — Recherches expérimentales sur la rage des rats, etc. *Ibid.* XL, p. 197 et 318, ainsi que L, p. 318.
- Le virus fixe de Sassari. *Ibid.*, LIII, p. 397.
- HELLER et RÖTHERMUNDT. — Wutschutzimpfung und Wutimmunität. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd VIII.
- KONRADL. — Ist die Wut vererbbar? *Centr. f. Bakteriolog. Orig.*, Bd XXXVIII, p. 60, et *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1903, p. 301.
- Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektiösfähig? *Ibid.* Orig. Bd XLVII, p. 203.
- KOCH JOSEF. — Lyssa. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd. VIII.
- MIESSNER-KLIEM et KAPPBERGER. — Immunisierungsversuche gegen Tollwut, VIII. Uebertragung der Lyssa vom Muttertier auf den Fœtus. *Arch. f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde*, Bd XXXIX, H. 3, p. 169.
- REPETTO. — Experimentelle und histologische Beobachtungen über die Milch und die Amniosflüssigkeit eines an der Tollwut gestorbenen Schafes. *Centr. f. Bakteriologie*, Bd L, p. 442.
- REMLINGER. — Sur l'infection des murides contre la rage par voie digestive. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXIV, n° 18.
- Transmission de la rage à la souris par ingestion. *Ibid.*, t. LXV, n° 30.
- La rage chez les tout jeunes chiens. *Ibid.*, t. LXV, n° 34.
- Rapport sur la rage. *I^{er} Congrès internat. de pathol. comp.*, I, p. 149.
- SCHINDLER. — Tollwutimpfungen an Muriden. *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd LXI, p. 169. Ref. *Centr. f. Bakteriolog.*, Bd XLIII, p. 699.
- WASSERMANN et KEYSER. — Erbliche Uebertragung von Infektionskrankheiten. *Kolle-Wassermann Handbuch*, Bd II, Aufl. I, p. 662.
- ZAGARRIO. — Trasmissione della rabbia durante il periodo di incubazione. Ref. *Baumgarten's Jahresberichte*, 1903, p. 816.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.